



SIMULACIÓN IN VITRO DE LA DIGESTIÓN GASTROINTESTINAL DE ALIMENTOS

Apellidos, nombre	Asensio Grau, Andrea (anasgr@upvnet.es) Calvo Lerma, Joaquim (joacalle@upvnet.es) Heredia Gutiérrez, Ana (anhegu@tal.upv.es) Andrés Grau, Ana (aandres@tal.upv.es)
Departamento	Ciencia y Tecnología de los Alimentos
Centro	Universitat Politècnica de València



1 Resumen de las ideas clave

La digestión gastrointestinal es un proceso fundamental ya que permite que los alimentos que ingerimos se transformen en las formas químicas más sencillas que pueden ser absorbidas, para así ejercer su función biológica. Debido a la complejidad que presentan los alimentos a nivel estructural, y el amplio abanico de matrices alimentarias definidas por el origen, el procesado y la composición nutricional, se pueden dar muchos escenarios en el contexto de una digestión. La complejidad se ve incrementada cuando se consideran los diferentes factores fisiológicos que intervienen en este proceso, como el volumen de fluidos digestivos, su composición, el pH del medio, la velocidad de tránsito o duración de cada etapa, los cuales pueden variar de un individuo a otro [1]. A pesar de la complejidad del proceso digestivo, la simulación in vitro, en estático o en dinámico, ha sido avalada por la comunidad científica como una herramienta útil para la determinación de la digestibilidad de macronutrientes (proteínas, glúcidos y lípidos) y bioaccesibilidad de compuestos bioactivos de interés como antioxidantes, minerales o vitaminas en alimentos y suplementos alimentarios bajo condiciones controladas y a escala de laboratorio. También ha sido aplicada con éxito en la determinación de la viabilidad de bacterias probióticas, entre otros ejemplos. A lo largo de este artículo docente, vas a conocer los agentes implicados en las diferentes etapas digestivas y su funcionalidad, así como a simular la digestión luminal humana en un modelo in vitro y en estático a escala de laboratorio.

2 Introducción

La digestión gastrointestinal es el proceso por el cual los nutrientes que ingerimos con los alimentos se transforman en las unidades que los conforman para poder ser absorbidos en el intestino. La digestión se divide en tres etapas: oral, gástrica e intestinal. En cada una de ellas, intervienen distintos mecanismos y agentes que se encargan de desestructurar los alimentos para permitir la liberación de nutrientes, su hidrólisis y eventual absorción. Estos incluyen las fuerzas mecánicas y movimientos peristálticos, la secreción de fluidos que contienen las enzimas digestivas y/o otros compuestos como las sales biliares y modifican el pH en cada etapa para favorecer la hidrólisis de nutrientes.

A lo largo de las etapas de la digestión, los carbohidratos resultan en monosacáridos gracias a la acción de las amilasas, lactasas y otras enzimas glicolíticas. Los enlaces que unen los aminoácidos en las proteínas son atacados por las proteasas (pepsina, tripsina, y quimiotripsina principalmente), quedando éstos en forma de aminoácidos libres o pequeños péptidos. Por su parte, las lipasas, gástrica e intestinal, se encargan de hidrolizar los puentes que mantienen unidos los ácidos grasos al glicerol en la molécula del triglicérido, dejándolos disponibles para ser absorbidos (**Figura 1**).

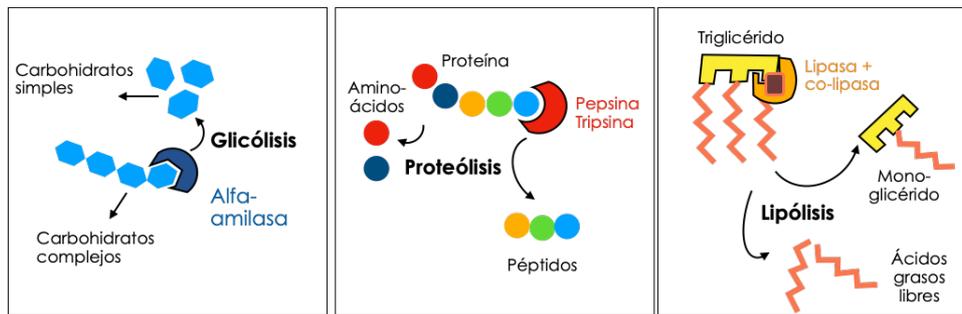


Figura 1. Hidrólisis de los macronutrientes. Esquema simplificado a nivel molecular

A continuación, **veamos cómo se integran estas reacciones hidrolíticas en cada etapa, y cómo se conjugan con el resto de factores responsables de la digestión.**

Etapa oral: la masticación es la primera fuerza mecánica, y además la que en mayor grado contribuye a desestructurar la matriz alimento. Este proceso sirve también para mezclar el alimento con el fluido salival (o saliva) conformando el bolo alimentario. La saliva contribuye a que el pH del bolo alimentario sea cercano a 7, y contiene alfa-amilasa. Esta enzima se encarga de la hidrólisis de los enlaces glucosídicos que unen monómeros de carbohidrato en polisacáridos como el almidón. Durante el breve tiempo de residencia en la boca, la alfa-amilasa inicia la hidrólisis de los carbohidratos. Posteriormente, tras la deglución, el bajo pH del estómago hará que se inactive.

Etapa gástrica: se inicia con la llegada del bolo alimentario al estómago. Se secreta el fluido gástrico, que contiene el ácido clorhídrico como el principal agente que provoca la bajada de pH, hasta valores medios de 3. Asimismo, el jugo gástrico incluye la pepsina, la principal enzima hidrolítica de la etapa gástrica, que se encarga de la proteólisis parcial de las proteínas. La lipasa gástrica es otra de las enzimas presentes en esta etapa, si bien su contribución a la lipólisis total tras el proceso completo de digestión no llega al 30%. Las contracciones de las paredes del estómago, por su parte, contribuyen a la homogenización del contenido gástrico (disrupción del bolo alimentario y conjugación con los fluidos), resultando en el quimo. A medida que avanza esta etapa, disminuye el tamaño de partícula del quimo de forma progresiva. El píloro, la válvula que conecta con el intestino delgado, se va contrayendo y dejando pasar a través de sí aquella parte del quimo que haya alcanzado un tamaño de partícula lo suficientemente pequeño. Es por eso que el vaciado gástrico es un proceso progresivo, que puede durar hasta 2 horas en función del alimento ingerido.

Etapa intestinal: es la más compleja de todas. A medida que el contenido gástrico va pasando al duodeno (el primer tramo del intestino delgado) se va alcalinizando gracias a la secreción pancreática, conformando el quilo. El páncreas secreta el jugo pancreático, que contiene bicarbonato y es el principal agente responsable del aumento del pH de forma abrupta, desde 3-4 hasta 6-7. Este jugo contiene la pancreatina, una mezcla de enzimas hidrolíticas que incluye proteasas (tripsina y quimiotripsina), amilasas (alfa-amilasa) y lipasa (junto con co-lipasa). Las proteasas continúan con la hidrólisis de las proteínas y péptidos resultantes de la actividad previa de la pepsina en el estómago. Las amilasas retoman la actividad glicolítica que había iniciado la alfa-amilasa salivar, completando la hidrólisis de los carbohidratos. Por su



parte, la lipasa, se enfrentará a las grasas casi por primera vez, ya que, hasta esta etapa, tan solo la lipasa gástrica habrá actuado sobre ellas, y lo habrá hecho en baja proporción de hidrólisis total. La lipasa pancreática requiere un pH óptimo de 7 para ejercer su actividad, la presencia de co-lipasa para unirse a su sitio de acción en el triglicérido, y la presencia de sales biliares que despejen los productos de lipólisis (los ácidos grasos libres) de la superficie del glóbulo de grasa). Las sales biliares, por otro lado, son secretadas por la vesícula biliar, y son el principal agente emulgente en esta etapa. Esta función surfactante es también necesaria a la hora de la absorción de los productos de la lipólisis (hidrófobos), ya que se encargan de englobarlos (formar una micela) y transportarlos a través del medio acuoso que es el fluido intestinal, hasta presentarlos a los enterocitos (células de la pared intestinal) que los absorberán. Estas células, se encargan también de absorber los monosacáridos y aminoácidos, los productos de la glicólisis y la proteólisis respectivamente, a través de mecanismos menos complejos. A lo largo de la etapa intestinal, los movimientos peristálticos hacen avanzar el quilo por el duodeno, íleon y yeyuno, hasta llegar al colon. En esta última etapa, se da la metabolización de los productos de la digestión no absorbidos (como fibras o restos de péptido) por parte de los microorganismos que conforman la microbiota.

En los últimos años, se ha producido un creciente interés por conocer la digestión de los alimentos, por sus implicaciones en ciertas funciones y efectos sobre el organismo, siendo hoy en día el estudio del binomio digestión-salud una de las prioridades en distintos campos de investigación. En este contexto, existen diferentes metodologías que permiten el estudio del proceso digestión y sus implicaciones sobre la salud: los modelos de digestión in vivo, in vitro e in silico, estos últimos siendo aún poco frecuentes y estandarizados. Por un lado, los estudios de digestión in vivo en animales o humanos son costosos, largos, presentan restricciones éticas y no permiten conocer el estado de la digestión en el punto final mediante muestras de plasma o heces. En cambio, los estudios in vitro tienen numerosas ventajas, como rapidez, precio, reproducibilidad, muestreo a distintos puntos del proceso, y permiten reproducir varios experimentos simultáneamente. Existen diferentes modelos de digestión in vitro. Los modelos dinámicos ofrecen una aproximación más fisiológica a la simulación ya que permiten establecer caudales de secreción de fluidos y simular la absorción. Los estáticos, son más sencillos, pero más rápidos, y han demostrado ser representativos de situaciones fisiológicas in vivo. La elección del modelo, y sus correspondientes adaptaciones, se harán en función de los objetivos planteados, de los alimentos a estudiar y las determinaciones analíticas a realizar.

3 Objetivos

El objetivo de este artículo docente es **explicar al alumno cómo llevar a cabo la digestión gastrointestinal de un alimento mediante modelos in vitro en estático**. Concretamente, se trata de un modelo de digestión in vitro estático en tres etapas (oral, gástrica e intestinal) simulando en cada una de ellas los fluidos digestivos y los aspectos más relevantes. Los objetivos específicos que lograremos son los siguientes:

- Conocer las características y procesos relativos a cada etapa de la digestión
- Preparar los fluidos digestivos simulados
- Simular las condiciones fisiológicas de cada etapa



- Utilizar los equipos que conforman las unidades de simulación de las distintas etapas
- Conocer las determinaciones analíticas adjuntas al proceso de digestión in vitro

4 Desarrollo

Hemos planteado un plan experimental para que aprendamos a preparar los fluidos digestivos y conozcamos los parámetros a simular en cada etapa de la digestión. Este planteamiento sentará las bases y será válido para cualquier experimento de digestión in vitro que se desee plantear. Lo haremos siguiendo el consenso internacional que define las bases para realizar simulaciones de digestión in vitro (Minekus et al., 2014) con las modificaciones específicas, adaptadas al presente experimento. Para poder ilustrar el proceso, elegimos como alimento a estudiar el salmón, por ejemplo.

4.1 Fundamento del método

El método de digestión in vitro estático, se fundamenta en la simulación de las condiciones fisiológicas de la digestión en el laboratorio, en cuanto a los siguientes parámetros: volumen y composición de los fluidos digestivos, régimen de agitación, pH, temperatura y duración de cada etapa. Así pues, prepararemos fluidos digestivos simulados con distintas concentraciones de electrolitos y las correspondientes enzimas y simularemos los tiempos de residencia en cada fase con sus respectivas condiciones. Se podrán tomar alícuotas del contenido digestivo en cada etapa para realizar las determinaciones analíticas que se planteen según el objetivo del experimento, tales como lipólisis, proteólisis o glicólisis.

4.2 Materiales y reactivos

Antes de empezar las determinaciones analíticas, presentamos el material y reactivos necesarios para poder llevarlas a cabo.

Material e instrumentación

- | | | |
|------------------------|------------------------|------------------------|
| - Bureta de 100 ml | - Balanza analítica | - Pipetas pasteur |
| - Matraz aforado 25 ml | - Cámara termostataada | - Micropipetas |
| - Vasos de precipitado | - Agitadores | - Tubos falcon 50 ml |
| - Frascos de 500 ml | | - Tubos eppendorf 2 ml |

Reactivos químicos

- | | |
|------------------------------|---------------------------------|
| - HCl 1N | - Pepsina de origen porcino |
| - NaOH 1N | - Bilis bovina |
| - Soluciones de electrolitos | - Pancreatina de origen porcino |
| | - Alfa amilasa de origen |

4.3 Procedimiento experimental

En esta sección detallamos cómo calcular y preparar los reactivos y disoluciones necesarias para formular los fluidos digestivos, y posteriormente indicaremos las características que deberemos tener en cuenta para reproducir cada etapa del proceso digestivo. La **Figura 2**, ilustrará seguidamente el resumen de la explicación.

Preparación de los fluidos digestivos simulados

Vamos a preparar los fluidos digestivos a base de una disolución de diversos electrolitos a la que incorporaremos enzimas digestivas y sales biliares (según la etapa).

a) Disoluciones electrolíticas

En primer lugar, prepararemos las disoluciones electrolíticas para la etapa oral, gástrica e intestinal de acuerdo con la **Tabla 1**, donde se describe la concentración que cada electrolito deberá tener en la disolución final.

Tabla 1. Electrolitos y concentración (mmol/L) de la disolución oral, gástrica e intestinal

Electrolito	Disolución oral	Disolución gástrica	Disolución intestinal
KCl	15.1	6.9	6.8
KH ₂ PO ₄	3.7	0.9	0.8
NaHCO ₃	13.6	25	85
NaCl	-	47.2	38.4
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	0.15	0.1	0.33
(NH ₄) ₂ CO ₃	0.06	0.5	-
CaCl ₂	1.5	0.15	0.6

Para poder simular la digestión gastrointestinal se tendrán que preparar las distintas disoluciones enzimáticas: **disolución amilasa** (1500 U/ml), **disolución pepsina** (20000 U/ml) y **disolución pancreatina** (800 U/ml si está basado en la actividad tripsina y 1600 U/ml si está basado en la actividad lipasa). La concentración de la disolución pancreatina dependerá del tipo de alimento, si se trata de un alimento con un alto contenido en grasa se preparará una disolución en función de la actividad lipasa de la pancreatina de una concentración (1600 U/ml). Mientras que, si el alimento tiene un contenido en grasa bajo, la disolución de pancreatina se preparará en función de la actividad tripsina y la concentración de la misma deberá ser de 800 U/ml. También se tendrá que preparar la **disolución de CaCl₂** 0,3 mM y la **disolución de sales biliares** de 150 mM. A continuación, se detallan los cálculos necesarios para calcularlas.

b) Disoluciones enzimáticas

Disolución amilasa: Queremos preparar 10 ml de solución amilasa con una concentración de 1500 U/ml. Si la amilasa tiene una actividad media de 1500 U/mg necesitaremos:

$$\frac{1500 \text{ U}}{\text{ml}} \div \frac{1500 \text{ U}}{\text{mg}} = \frac{1 \text{ mg}}{\text{ml}} \cdot 10 \text{ ml} = 10 \text{ mg en } 10 \text{ ml de disolución oral}$$

Disolución pepsina: Queremos preparar 10 ml de solución pepsina con una concentración de 20000 U/ml. Si la pepsina tiene una actividad media de 3616 U/mg necesitaremos:

$$\frac{20000 \text{ U}}{\text{ml}} \div \frac{3616 \text{ U}}{\text{mg}} = \frac{5,53 \text{ mg}}{\text{ml}} \cdot 10 \text{ ml} = 55,30 \text{ mg en } 10 \text{ ml de disolución gástrica}$$



Disolución de pancreatina: Queremos preparar una disolución de pancreatina de 10 ml con una concentración de 800 U/ml y otra de 16000 U/ml, utilizaremos una u otra en función del alimento que estudiemos. Si la pancreatina tiene una actividad tripsina de 7,5 U/mg y actividad de lipasa de 65 U/mg necesitaremos:

$$\frac{800 \text{ U}}{\text{ml}} \div \frac{7,5 \text{ U}}{\text{mg}} = \frac{106,67 \text{ mg}}{\text{ml}} \cdot 10 \text{ ml} = 1066,67 \text{ mg en } 10 \text{ ml de disolución intestinal}$$

$$\frac{16000 \text{ U}}{\text{ml}} \div \frac{65 \text{ U}}{\text{mg}} = \frac{246,2 \text{ mg}}{\text{ml}} \cdot 10 \text{ ml} = 2462 \text{ mg en } 10 \text{ ml de disolución intestinal}$$

c) Disolución de CaCl_2

Para la simulación de la digestión in vitro es necesario preparar una disolución de CaCl_2 0,3 M. Sabiendo que el peso molecular (M_r) del CaCl_2 es 110,98 g/mol, necesitaremos:

$$\frac{0,3 \text{ mol}}{\text{L}} \cdot \frac{110,98 \text{ g}}{\text{mol}} = \frac{33,29 \text{ g}}{\text{L}} \cdot \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ ml}} \cdot 50 \text{ ml} = 1,66 \text{ g en } 50 \text{ ml de agua bidestilada}$$

d) Disoluciones de sales biliares

También necesitaremos una solución de sales biliares que utilizaremos tal y como veremos más adelante en la etapa intestinal. Las sales biliares bovinas, que son las que utilizaremos para la simulación: están compuestas por las siguientes sales biliares: 31 % de taurocolato (515,71 g/mol), 46 % de glicolato (465,6 g/mol), 2% tauroquenodeoxicolato (499,7 g/mol), 3% glicokenodeoxicolato (449,6 g/mol), 8 % de taurodeoxicolato (489,7 g/mol), 10 % de glicodeoxicolato (449,6 g/mol). Como la concentración de sales biliares que queremos en la solución es de 160 mM y tenemos distintas sales tendremos que calcular la masa molecular de las sales biliares teniendo en cuenta la concentración de cada sal.

$$M_r(\text{sales biliares}) = \frac{31}{100} \cdot 515,71 + \frac{46}{100} \cdot 465,6 + \frac{2}{100} \cdot 499,7 + \frac{3}{100} \cdot 449,6 + \frac{8}{100} \cdot 489,7 + \frac{1}{100} \cdot 449,6 = 482,39 \text{ g/mol}$$

Por lo que si hemos de preparar 20 ml de una disolución de bilis 160 mM necesitaremos:

$$\frac{160 \text{ mmol}}{\text{L}} \cdot \frac{1 \text{ mol}}{1000 \text{ mmol}} \cdot \frac{482,39 \text{ g}}{\text{mol}} \cdot \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \cdot 20 \text{ mL} = 1,54 \text{ g en } 20 \text{ mL de agua bidestilada}$$

Cuando planteamos el plan experimental para simular la digestión in vitro de un alimento, deberemos tener en cuenta si éste presenta alguna característica que permita obviar la incorporación de alguna de las disoluciones enzimáticas al proceso. Por ejemplo, en el caso de alimentos de origen animal que carezcan de almidón (pescados y carnes frescos, huevos, leche, etc.) podría plantearse la no incorporación de la disolución de alfa-amilasa al fluido salivar, sustituyendo este volumen por disolución de electrolitos.

Simulación del proceso gastro-intestinal

1) Etapa oral

La cantidad de fluido salivar a añadir es en proporción 1:1 (peso del alimento: volumen fluido). Para ello, se añadirán 5 g de un alimento graso con 5 ml de fluido salivar simulado y se homogenizará durante 2 minutos. Para 5 ml de fluido salivar simulado se necesitarán



las siguientes proporciones: 3,5 ml de disolución salivar, 0,5 ml de la solución amilasa, 25 microlitros de CaCl_2 , 0,975 ml de agua bidestilada. Durante la misma nos aseguraremos que la temperatura sea de 37°C y el pH de 7.

2) Etapa gástrica

Pasados los 2 minutos de la etapa oral, se añadirá a los 10 ml de fluido gástrico simulado a los 10 ml de bolo oral, en proporción 1:1 (v:v). Los 10 ml de fluido gástrico simulado se realizarán a partir de las siguientes proporciones: 7,5 ml de disolución gástrica, 2 ml de disolución pepsina, 5 microlitros de CaCl_2 , 0,2 mL de HCl y 0,295 ml de agua bidestilada. Añadidas estas proporciones en los tubos falcon, estos se introducirán en la cámara termostada para asegurar que se encuentran a 37 °C y se agitaran durante 120 minutos. Es importante medir el pH antes de introducir los tubos en la cámara para cerciorar que el pH gástrico es de 3.

3) Etapa intestinal

Tras los 120 minutos de digestión gástrica, simularemos la digestión intestinal. Para ello, introduciremos 20 ml de fluido intestinal simulado a los 20 mL de bolo gástrico, siempre en proporción 1:1 (v:v). Los 20 ml de fluido intestinal simulado se prepararán a partir de las proporciones siguientes: 11 ml de disolución intestinal, 5 ml solución de pancreatina (ene este caso, al ser salmón utilizaremos la disolución de pancreatina con una concentración 16000U/ml), 2,5 ml de la solución de sales biliares, 40 microlitros de CaCl_2 , 0,15 ml de NaOH y 1,31 ml de agua bidestilada. Una vez añadamos el fluido intestinal simulado al tubo falcon, comprobaremos que este se encuentra en un pH de 7 y lo introduciremos en la cámara termostada a 37 °C y en agitación durante 120 minutos.

Toma de alícuotas para futuras determinaciones

A lo largo de toda la simulación del proceso digestivo se podrán tomar alícuotas para su posterior determinación analítica. El volumen de la misma dependerá del método de análisis utilizado. Es necesario llevar a cabo una inactivación de las enzimas digestivas en las alícuotas antes de proceder a las determinaciones analíticas. Para ello podremos o bien incrementar/disminuir el pH para que no sea el óptimo de la actividad enzimática, o bien bajar a temperaturas de congelación. Éstas se pueden mantener congeladas hasta el momento de la determinación analítica. Por otro lado, en los casos en que las determinaciones analíticas requieran el volumen total del contenido digestivo simulado (es decir, el tubo entero), se deberá considerar si el sustrato a analizar es la fracción bioaccesible del digerido (la fase líquida, en la que se han transferido los componentes desde la matriz) o la fracción sólida, que todavía no ha sido desestructurada y sobre la cual no se espera encontrar productos de la digestión.

4.1 Principales determinaciones analíticas

A largo de la simulación del proceso digestivo, se han podido tomar alícuotas de la muestra para posterior determinación o cuantificación de los fenómenos de hidrólisis de proteínas, carbohidratos y grasas. Algunos de los tiempos a los que típicamente se desea conocer el estado de la digestión de los nutrientes son al final de las etapas oral, gástrica e intestinal. Asimismo, podemos plantear el estudio de la cinética de digestión de algún nutriente tomando alícuotas a distintos tiempos dentro de una misma etapa (**Tabla 2**). Un ejemplo característico, es el caso de la glicólisis, para la cual se toman muestras a tiempos 0, 20 y 120 minutos de la etapa intestinal, que se corresponden con los tiempos a los que se han referido hidrólisis completas de los carbohidratos de absorción rápida y lenta, respectivamente. Ésta se puede determinar como monosacáridos libres con el método colorimétrico del ácido dinitrosalicílico (DNS). La lipólisis se puede determinar

por el método del kit enzimático, que identifica por espectrofotometría los ácidos grasos libres en el fluido, o por resonancia magnética nuclear (RMN), una técnica que nos permite identificar todas las especies lipídicas (triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos y ácidos grasos libres). Por su parte, la proteólisis se puede estimar con la determinación de la proteína soluble en tricloroacético (TCA), o lo que es lo mismo, la cantidad de aminoácidos liberados. Es también de gran interés la caracterización del perfil de aminoácidos por cromatografía. Otros seguimientos que se pueden analizar con el método de digestión in vitro son los polifenoles o la actividad antioxidante. Para estos métodos tenemos disponible diversas técnicas, como el Folin-Cicalteau. Estas determinaciones analíticas se encuentran disponibles en otros artículos docentes.

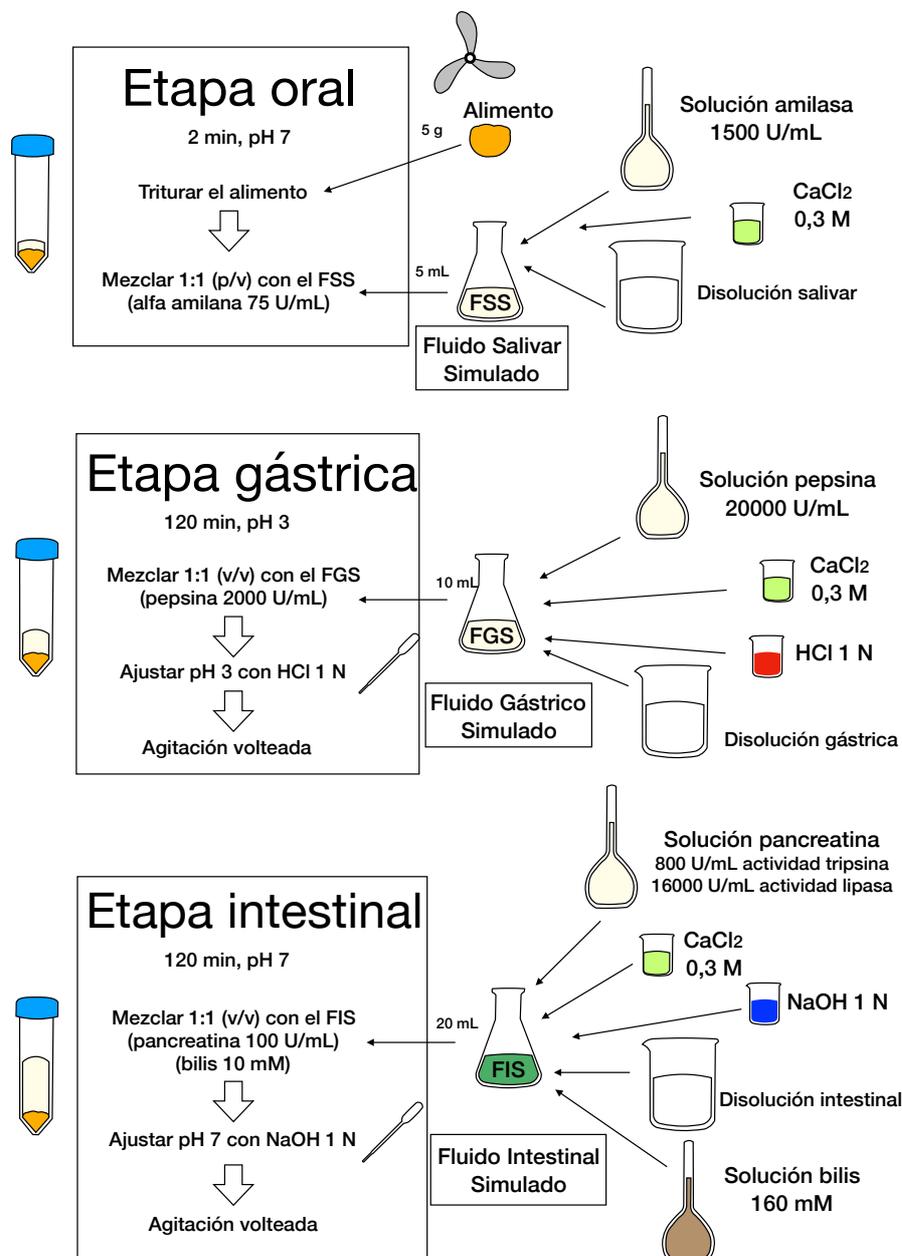


Figura 2. Resumen del proceso de digestión in vitro estática

Tabla 2. Ejemplos de determinaciones analíticas de seguimiento de digestibilidad de nutrientes complementarias al proceso de digestión in vitro.

Nutriente y método analítico	Fundamento	Tiempo de muestreo
Carbohidratos DNS (ácido dinitrosalicílico) [4]	Los azúcares simples que han sido liberados durante la digestión se colorean en presencia del DNS a 80°C. Esta coloración puede medirse por espectrofotometría 530 nm	0, 20 y 120 min de etapa intestinal
Proteína TCA (ácido tricloroacético) [5]	Los aminoácidos liberados durante la digestión gastrointestinal se solubilizan en TCA. Estos se pueden medir por espectrofotometría ultravioleta a 280 nm	120 min de etapa gástrica + 120 min intestinal
Lípidos Kit colorimétrico de ácidos grasos [6]	La presencia de los ácidos grasos liberados durante la digestión y los compuestos del kit enzimático desencadenan reacciones enzimáticas que generan una coloración proporcional a la presencia de ácidos grasos libres. Esta puede ser medida por espectrofotometría a 534 nm	120 min de etapa gástrica + 120 min intestinal

5 Cierre

A lo largo de este artículo docente, hemos aprendido reproducir el proceso de digestión gastrointestinal de un alimento en el laboratorio teniendo en cuenta las características fisiológicas del proceso en cada etapa. Asimismo, este documento nos ha mostrado las posibilidades que ofrece esta metodología de trabajo en diferentes áreas como la ciencia y tecnología de alimentos, la biotecnología o la farmacéutica, entre otras.

6 Bibliografía

- [1] Lamothe, S., Azimy, N., & Bazinet, L. (2014). Function Interaction of green tea polyphenols with dairy matrices in a simulated gastrointestinal environment. *Food & Function*, 5, 2621–2631
- [2] Hunter, J. E. (2001). Studies on Effects of Dietary Fatty Acids as Related to Their Position on Triglycerides. *Lipids*, 36(7), 655-668
- [3] Guo, Q., Ye, A., Bellissimo, N., Singh, H., & Rousseau, D. (2017). Modulating fat digestion through food structure design. *Progress in Lipid Research*, 68, 109-118.
- [4] Mishra, S., Monro, J., & Hedderley, D. (2008). Effect of processing on slowly digestible starch and resistant starch in potato. *Starch-Stärke*, 60(9), 500-507.
- [5] Asensio-Grau, A., Peinado, I., Heredia, A., & Andrés, A. (2018). Effect of cooking methods and intestinal conditions on lipolysis, proteolysis and xanthophylls bioaccessibility of eggs. *Journal of functional foods*, 46, 579-586